Wirkung von Thiotepa auf Zellen des Chinesischen Hamsters

Bernhard Ohwerk

1979

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535722_0068

Aus dem Strahlenbiologischen Institut der Universität München

Direktor: Prof. Dr. O. Hug

Wirkung von Thiotepa auf Zellen des Chinesischen Hamsters

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilian-Universität München

Vorgelegt
von

Bernhard Ohwerk
aus
Alzenau/Ufr.

Mit Genehmigung des Fachbereiches Medizin
der Universität München

Berichterstatter:	Priv.Doz.Dr.R.-K. Trott
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Wilmanns
Dekan:	Prof.Dr.W.Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	26. 6. 1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

DISSERTATIONS– UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

Meinen Eltern

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Otto Hug für die Überlassung des Themas, für die Möglichkeit, die Arbeit an seinem Institut durchzuführen und für seine wertvollen Anregungen, die zum Gelingen meiner Dissertation wesentlich beitrugen.

Weiterhin danke ich Herrn Priv. Doz. Dr. K. R. Trott für seine Hilfe und Erfahrung, die er mir jederzeit zur Verfügung stellte, sowie allen Mitarbeitern des Strahlenbiologischen Institutes, die meine Versuche freundlicherweise unterstützten.

I N H A L T

Einleitung 1

Zellkultivierung und Methode 2

Durchführung der Versuche

a) Die Abhängigkeit der Überlebensrate von der Konzentration von Thiotepa 3

b) Die Abhängigkeit der Überlebensrate von der Einwirkdauer von Thiotepa 4

c) Die Abhängigkeit der Überlebensrate unter der Fraktionierung von Thiotepa 4

Ergebnisse

I. Abhängigkeit der Überlebensrate von der Konzentration 5

II. Abhängigkeit der Überlebensrate von der Einwirkdauer 7

III. Abhängigkeit der Überlebensrate vom Fraktionierungsintervall 16

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die Abhängigkeit der Überlebensrate der Zellen von der Konzentration bei gleicher Einwirkdauer 22

2. Die Abhängigkeit der Überlebensrate der Zellen von der Einwirkdauer bei gleicher Konzentration 23

3. Die Abhängigkeit der Überlebensrate vom Fraktionierungsintervall zwischen zwei Thiotepa-Gaben 23

Diskussion

a) Dosiseffektbeziehung 24

b) Bedeutung der Einwirkdauer 25

c) Fraktionierungseffekt 26

Abbildung und Tabelle 29

Zusammenfassung 30

Literatur

Einleitung

Die Chemotherapie mit Zytostatika spielt heute neben chirurgischen Eingriffen und radiologischen Maßnahmen in der modernen Tumorbehandlung eine bedeutende Rolle. Bei vielen malignen Erkrankungen wie etwa bei den verschiedenen Leukämieformen, beim Morbus Hodgkin, aber auch bei anderen Tumoren werden Zytostatika nach festen Erfahrungsschemata mit großem Erfolg angewendet, was insbesondere die Verdienste jahrelanger intensiver klinischer, laborchemischer und zytologischer Untersuchungen sind.

Für einen optimalen Einsatz dieser Medikamente im klinischen Bereich sind genauere Kenntnisse über deren Wirkungsmechanismus an Tumorzellen notwendig. Um dieser Forderung gerecht zu werden, haben sich Untersuchungen an Zellkulturen in vitro als besonders wertvoll erwiesen. So wurden in vielen Experimenten neue und wichtige Erkenntnisse über den Einfluß antineoplastischer Substanzen auf die Zellsynthese und Sensibilitätsänderung während des Zellzyklusses von Tumorzellen gewonnen (Bhuyan 1972, Levis 1963, Philipp 1975, Sakamoto 1969, Walker 1968).

Zytostatika und ionisierende Strahlen zeigen bei ihrer Wirkung auf Tumorzellen in vitro in der Abhängigkeit der Überlebensrate von der Konzentration bzw. Strahlendosis scheinbar analoge Aspekte. Für den klinischen Bereich von Bedeutung ist die Frage, ob die in der Klinik gebräuchliche Applikationsform einer fraktionierten Anwendung von ionisierenden Strahlen und Zytostatika eine ähnliche Analogie aufweisen.

In der vorliegenden Arbeit soll deshalb die Abhängigkeit der Einwirkung des zur alkylierenden Zytostatikagruppe zählenden Thiotepa auf Säugetierzellen in vitro von der Konzentration, der Einwirkdauer und der Fraktionierung untersucht werden.

Zellkultivierung und Methode

Die Versuche wurden mit Chinesischen Hamsterzellen des Stammes B-14, die aus dem M. D. Anderson Hospital, Houston, stammen (Dörner et al., 1975), durchgeführt. Alle drei Tage wurden diese Zellen, deren Generatio rat bei 16 Stunden liegt, in neues Nährmedium übergeführt. Die Nährlösung setzte sich aus Eagle's Minimum Essential Medium + Hank's Salze (Serva) zusammen, der 10% Kalb-Serum (GIBCO), 100 mg/l Neomycin (Byk-Gulden) und 350 mg/l $NaHCO_3$ beigefügt wurde. Bei der Subkultivierung der Zellen aus einer Stammkultur, die in einer Vierkantflasche aus Glas (Schott) im Brutschrank bei 37°C und einer mit CO_2 (3%) angereicherten, wasserdampfgesättigten Atmosphäre inkubiert war, wurde das Nährmedium mittels einer Pipette abgesaugt und anschließend der Zellrasen in der Vierkantflasche mit 5 ml einer Ca^{++}-freien Salzlösung (Hank's-Lösung ohne Ca und Mg) für 10 Minuten behandelt, wodurch sich der Zellrasen am Flaschenboden lockerte. Die Ca^{++}-freie Salzlösung wurde wieder abgegossen und auf den Zellrasen 10 Minuten lang 2 ml einer 0,2%igen Trypsinlösung (in Ca-freier Salzlösung) gegeben. Dadurch lösten sich die Zellen vom Flaschenboden ab und schwammen frei in der Lösung. Die so entstandene Zellsuspension wurde anschließend mit Nährlösung im Verhältnis 1:10 verdünnt. Mit Hilfe einer Zählkammer (nach Bürker) ließ sich die Zellzahl pro ml bestimmen und durch nachfolgende Verdünnungsreihe auf die gewünschte Konzentration einstellen. Zur Erhaltung der Stammkultur wurden ca. 50000 - 100000 Zellen in eine Vierkantflasche gegeben und im Brutschrank 3 Tage lang inkubiert. In andere Vierkantflaschen wurden 200 - 6000 Zellen eingesät, um die Proliferationsfähigkeit einzelner Zellen zu prüfen. Aus jeder proliferationsfähigen Zelle entstand nach 10tägiger Inkubation eine Kolonie von mehreren hundert Zellen. Nach Abgießen des Nährmediums wurden diese mit Methylenblau-Lösung nach Mayer gefärbt und unter einer Lupe ausgezählt. Berücksichtigt wurden dabei nur Kolonien, die aus mindestens 50 Zellen bestanden. Die Überlebensrate der Zellen ergibt sich aus dem Verhältnis der Kolonienzahl zur effektiven Einsaat, d.h. zur Kolonienzahl der unbehandelten Kontrollen, und wird in Prozent angegeben

Durchführung der Versuche

Drei Schwerpunkte lagen den Versuchsdurchführungen zugrunde. Die Abhängigkeit der Wirkung von Thiotepa auf Chinesische Hamsterzellen von

a) der Konzentration
b) der Einwirkdauer
c) der Fraktionierung.

zu a) Die Abhängigkeit der Überlebensrate von der Konzentration von Thiotepa.

Es galt, die Wirkung unterschiedlicher Thiotepa-Konzentrationen auf Chinesische Hamsterzellen bei einer konstanten Expositionszeit von 30 Minuten zu untersuchen.

Die eingesäten Zellen (zwischen 480 und 6000) wurden 24 Stunden bei 37°C im Brutschrank inkubiert. In dieser Zeit wuchsen die Zellen am Flaschenboden fest. Nach der 24stündigen Inkubationszeit wurden die Kulturflaschen aus dem Brutschrank genommen, die Nährlösung abgegossen und mit Eagle's Medium zur Beseitigung noch vorhandener Serumreste 2 - 3 Minuten lang gespült. Danach wurde die in Aqua bidest gelöste Trockenampulle Thiotepa unter Verwendung von Nährmedium (ohne Zusatz von Kalbserum) auf die gewünschte Konzentration verdünnt und auf die Zellkultur gegeben. Daraufhin erfolgte eine 30minütige Inkubation bei 37°C. Nach dieser Inkubationszeit wurde die Thiotepa-Lösung abgegossen und zur vollständigen Entfernung der Thiotepa-Reste die Zellen mit Medium 2 - 3 Minuten lang gespült. Anschließend wurde das Nährmedium, das vorher abgesaugt und aufbewahrt worden war, wieder auf die Zellen gegeben, und die Versuchsflaschen in den Brutschrank zurückgelegt.

zu b) Die Abhängigkeit der Überlebensrate von der Einwirkdauer von Thiotepa.

Die Versuchsdurchführung und Behandlung der Zellen entsprach der in a). Kurzgefaßt wurden nach der 24stündigen Anwachsphase die Zellen einer konstanten Konzentration (von 80 - 100 µg/ml) für 1/2 bis 3 Stunden exponiert, daraufhin einmal gespült und mit dem alten Nährmedium versetzt in den Brutschrank zurückgegeben.

zu c) Die Abhängigkeit der Überlebensrate unter der Fraktionierung von Thiotepa.

In den Fraktionierungsversuchen wurden die Zellen nach der ersten 1/2-stündigen Einwirkung des Thiotepa teils mit frischem Vollmedium mit Kalbserum, teils mit ursprünglichem Nährmedium für 1 - 8 Stunden behandelt. Nach diesem Thiotepa-freien Intervall wurde die Nährlösung wieder abgegossen und die Zellen mit frischem Medium gespült. Danach wurde auf die Zellkultur frisches Nährmedium unter Zusatz von Thiotepa in gleicher Konzentration gegeben. Nach einer 30-minütigen Exposition bei 37°C wurde das Thiotepa wieder abgegossen und nach erneutem Spülen schließlich das ursprüngliche Nährmedium wieder in die Versuchsflasche eingefüllt.

Ergebnisse

I. Abhängigkeit der Überlebensrate von Konzentration

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 40 µg/ml Thiotepa 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
84,8	538	251, 316, 273, 305, 266	282	61,8
103	482	306, 312, 227, 238, 246	266	53,7
		mittlere Überlebensrate		57,8

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 80 µg/ml Thiotepa 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
84,8	538	155, 133, 92, 158, 120	131	28,7
103	482	134, 103, 109, 137, 111	119	24
		mittlere Überlebensrate		26,4

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 120 µg/ml Thiotepa 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
84,8	5916	387, 575, 674, 730, 703	614	12,1
103	4823	574, 516, 485, 451, 410	487	9,7
		mittlere Überlebensrate		10,9

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 160 µg/ml Thiotepa 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
84,8	5916	107, 74, 63, 57, 90	78	1,5
103	4823	36, 29, 42, 68, 26	40	0,81
		mittlere Überlebensrate		1,2

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 200 µg/ml Thiotepa 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
84,8	5916	10, 11, 16, 22, 15	15	0,3
103	4823	10, 14, 13, 16, 9	12	0,24
		mittlere Überlebensrate	0,3	

Die ermittelten Überlebensraten bei den verschiedenen Konzentrationen sind in Abbildung 1 zusammenfassend dargestellt.

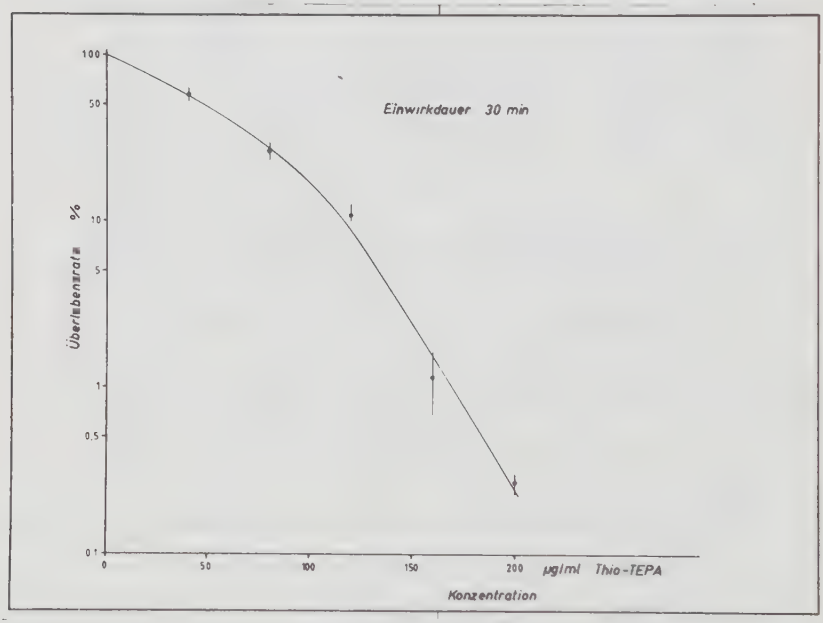

Abb. 1: Abhängigkeit der Überlebensrate Chinesischer Hamsterzellen von der Konzentration von Thiotepa bei einer Expositionsdauer von 30 Minuten.

Die senkrechten Linien ergeben sich aus den errechneten Standardabweichungen der einzelnen Versuche.

II. Abhängigkeit der Überlebensrate von der Einwirkdauer

Über einen längeren Zeitraum verteilt wurden mit 80 µg/ml Thiotepa 2 und mit 100 µg/ml Thiotepa 7 Versuche durchgeführt. Die jeweils zusammengehörenden werden getrennt aufgeführt und aus ihnen jeweils die Mittelwerte gebildet. Somit ergeben sich 3 Versuchsgruppen, in denen die Abhängigkeit der Wirkung von 100 µg/ml Thiotepa von der Einwirdauer untersucht wurde (Abb. 3 - 5).

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 80 µg/ml Thiotepa 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
92,5	1015	204, 184, 195, 188	192,7	20,5
87,5	1044	213, 177, 170, 169	182	19,9
		mittlere Überlebensrate	20,2	

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 80 µg/ml Thiotepa 45 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
92,5	10150	605, 583, 576, 548	578	6,1
87,5	10440	438, 418, 412, 400	417	4,6
		mittlere Überlebensrate	5,3	

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 80 µg/ml Thiotepa eine Stunde lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
92,5	10150	288, 278, 277, 230	268,2	2,8
87,5	10440	150, 138, 136, 126	137,5	1,5
		mittlere Überlebensrate	2,2	

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 80 µg/ml Thiotepa zwei Stunden lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
92,5	20300	235, 154, 129, 108	156,5	0,8
87,5	20880	92, 90, 88 82	88	0,5
		mittlere Überlebensrate	0,7	

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 80 µg/ml Thiotepa drei Stunden lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
92,5	20300	100, 98, 85, 78	90,25	0,43
87,5	20880	78, 74, 67, 62	70,2	0,37
		mittlere Überlebensrate	0,40	

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abbildung 2 zusammenfassend dargestellt.

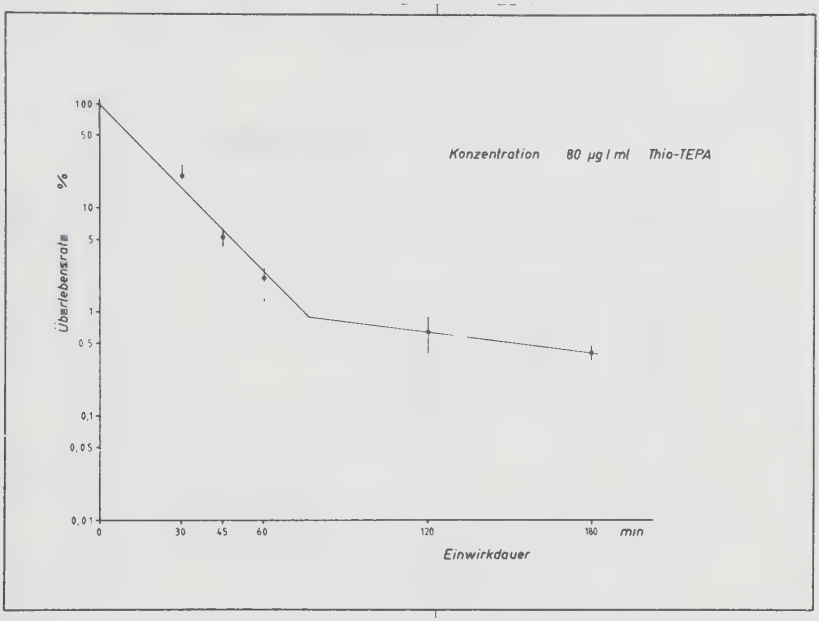

Abb. 2: Abhängigkeit der Überlebensrate Chinesischer Hamsterzellen von der Einwirkdauer von 30 - 180 Minuten bei konstanter Konzentration von 80 µg/ml Thiotepa.

Die senkrechten Linien ergeben sich aus den errechneten Standardabweichungen der einzelnen Versuche.

1. Versuchsserie mit 100 µg/ml Thiotepa

Bei 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
57,5	11020	936, 862, 843, 739	845	13,2
33,5	11310	910, 917, 923, 813	890,7	23
		mittlere Überlebensrate		18,2

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa 45 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
57,5	11020	407, 350, 294, 236	321,7	5,0
33,5	11310	108, 75, 61, 56	75	1,9
		mittlere Überlebensrate		3,5

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa 60 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
57,7	11020	254, 228, 188, 182	213	3,3
33,5	11310	48, 46, 31, 27	38	1,0
		mittlere Überlebensrate		2,2

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa 120 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
57,7	11020	30, 24, 23, 18	23,7	0,4
33,5	11310	19, 13, 8, 8	11,7	0,3
		Mittlere Überlebensrate		0,3

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa 180 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
57,7	11020	11, 9, 9, 5	8,7	0,1
33,5	11310	4, 7, 6, 11	7	0,2
		mittlere Überlebensrate		0,2

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abbildung 3 zusammengefaßt.

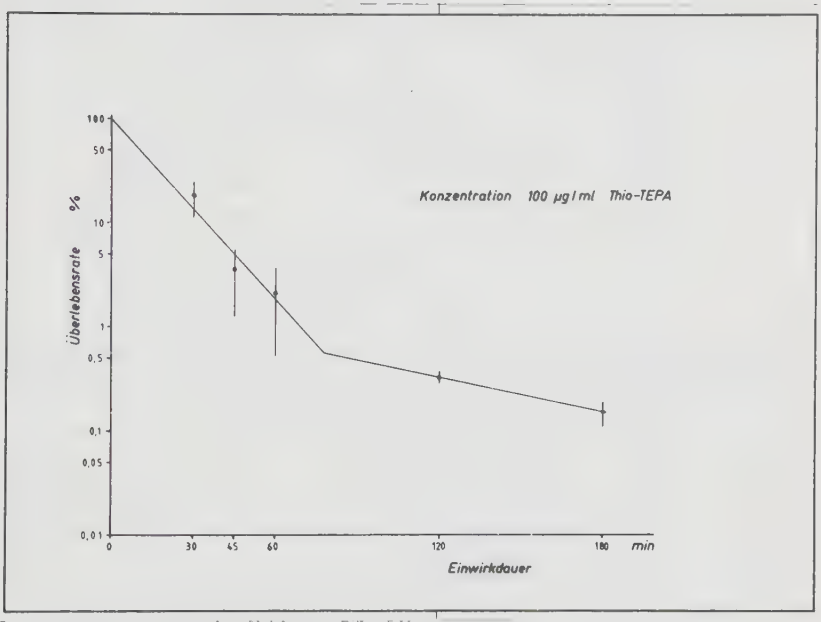

Abb. 3: Abhängigkeit der Überlebensrate Chinesischer Hamsterzellen von der Einwirkdauer von 30 - 180 Minuten bei konstanter Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa.

Die senkrechten Linien ergeben sich aus den errechneten Standardabweichungen der einzelnen Versuche.

2. Versuchsserie mit 100 µg/ml Thiotepa

Bei insgesamt 3 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
30,3	1112	102, 88, 87, 80	89,2	26,4
37,4	1069	250, 186, 202, 204	210,5	52,7
68,9	1098	83, 73, 66, 58	70,0	9,3
		mittlere Überlebensrate	29,5	

Bei insgesamt 3 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa 60 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
30,3	9744	134, 125, 129, 91	119,7	4,1
37,4	10110	98, 71, 72, 77	79,7	2,1
68,9	9624	44, 29, 13, 34	30,0	0,5
		mittlere Überlebensrate	2,2	

Bei insgesamt 3 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa 90 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
30,3	9744	44, 42, 32, 32	37,5	1,2
37,4	10110	93, 81, 85, 111	92,5	2,4
68,9	9624	27, 19, 17, 15	19,5	0,3
		mittlere Überlebensrate	1,3	

Bei insgesamt 3 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa 120 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
30,3	9744	49, 45, 45, 40	44,7	1,5
37,4	10110	100, 110, 116	108,6	2,9
68,9	9624	18, 18, 19, 21	19,0	0,3
		mittlere Überlebensrate	1,6	

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abbildung 4 zusammengefaßt.

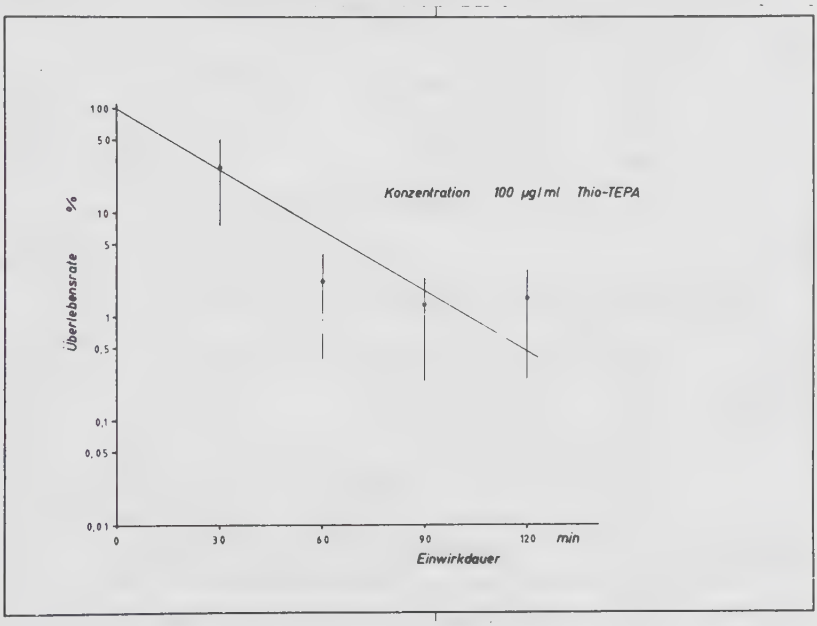

Abb. 4: Abhängigkeit der Überlebensrate Chinesischer Hamsterzellen von der Einwirkdauer von 30 - 120 Minuten bei konstanter Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa. Die Gerade wurde unter der Voraussetzung einer exponentiellen Dosiswirkungskurve eingezeichnet. - Die senkrechten Linien ergeben sich aus den errechneten Standardabweichungen der einzelnen Versuche.

3. Versuchsserie mit 100 µg/ml Thiotepa

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
67,9	1084	433, 377, 364, 380	389	52,9
53,1	1008	428, 407, 396, 402	408,2	76,2
		mittlere Überlebensrate		64,6

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa 60 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
53,1	10092	17, 17, 24, 22	20	0,4
67,9	9500	23, 39, 41, 22	31,3	0,5
		mittlere Überlebensrate		0,4

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa 90 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
53,1	10092	15, 16, 10, 11	13	0,2
67,9	9500	7, 9, 16, 9	10,2	0,2
		mittlere Überlebensrate		0,2

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa 120 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
67,9	9500	9, 7, 18, 8	10,5	0,2
53,1	10092	15, 9, 16, 11	12,7	0,2
		mittlere Überlebensrate		0,2

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abbildung 5 zusammenfassend dargestellt.

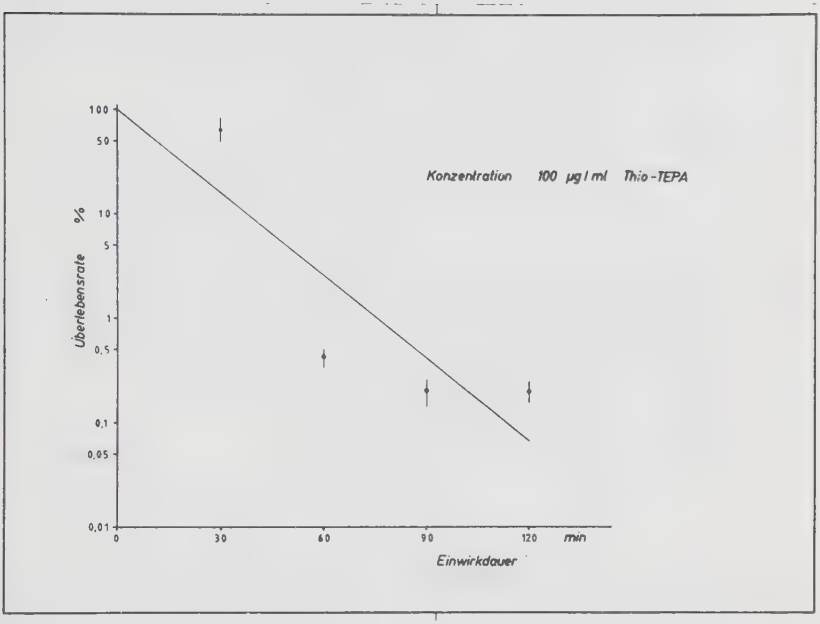

Abb. 5: Abhängigkeit der Überlebensrate Chinesischer Hamsterzellen von der Einwirkdauer von 30 - 120 Minuten bei konstanter Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa.

Die Gerade wurde unter der Voraussetzung einer exponentiellen Dosiswirkungskurve eingezeichnet.
Die senkrechten Linien ergeben sich aus den errechneten Standardabweichungen der einzelnen Versuche.

III. Abhängigkeit der Überlebensrate vom Fraktionierungsintervall

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 80 µg/ml Thiotepa zweimal 30 Minuten bei 37°C auf die Zellen ein. Die einzelnen Dosen waren durch ein Zeitintervall von 1 Stunde getrennt

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
84,1	21370	122, 114, 114, 55	101	0,56
35,5	20590	155, 148, 144, 105	138	1,96
		mittlere Überlebensrate	1,23	

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 80 µg/ml Thiotepa zweimal 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein. Die einzelnen Dosen waren durch ein Zeitintervall von 2 Stunden getrenn

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
84,1	21370	141, 121, 137, 88	121,7	0,7
35,5	20590	139, 101, 97, 72	102	1,4
		mittlere Überlebensrate	1,03	

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 80 µg/ml Thiotepa zweimal 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein. Die einzelnen Dosen waren durch ein Zeitintervall von 3 Stunden getrenn

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
84,1	21370	161, 148, 116, 101	131,5	0,72
35,5	20590	140, 124, 107, 104	119	1,6
		mittlere Überlebensrate	1,16	

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 80 µg/ml Thiotepa zweimal 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein. Die einzelnen Dosen waren durch ein Zeitintervall von 4 Stunden getrenn

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
84,1	21370	145, 140, 120, 119	131	0,7
35,5	20590	104, 100, 79, 78	90,2	1,2
		mittlere Überlebensrate	0,96	

Als Kontrolle wirkte eine Konzentration von 80 µg/ml Thiotepa für 60 Minuten ohne Intervall ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
84,1	21370	228, 192, 168, 150	187	1,0
35,5	20590	169, 164, 157, 148	159,2	2,2
		mittlere Überlebensrate	1,6	

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Abbildung 6 zusammenfassend dargestellt.

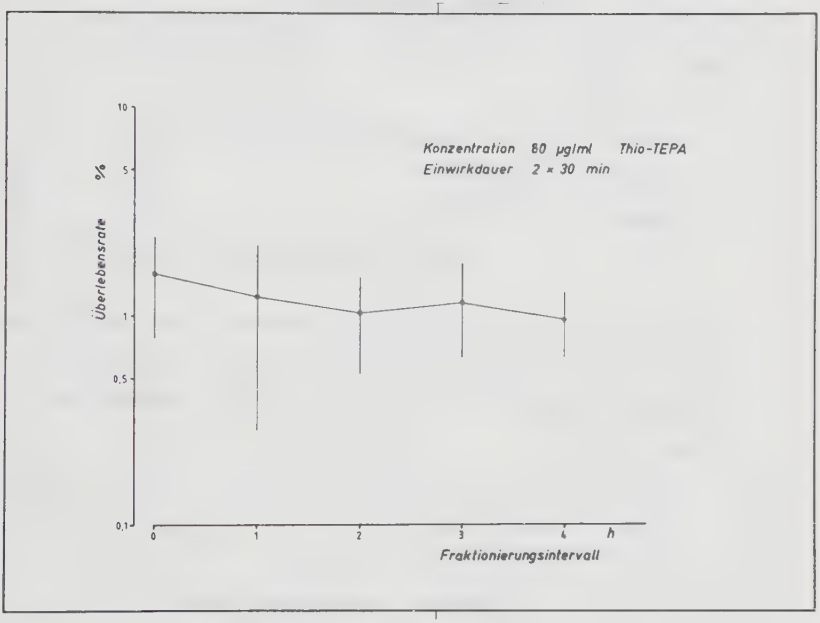

Abb. 6: Abhängigkeit der Überlebensrate vom Fraktionierungsintervall von 1 - 4 Stunden zwischen 2 Thiotepa-Gaben von 80 µg/ml für je 30 Min.

Die senkrechten Linien ergeben sich aus den errechneten Standardabweichungen der einzelnen Versuche.

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa zweimal 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein. Die einzelnen Expositionen waren durch ein Zeitintervall von 1 Stunde getrennt.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
53	20870	8, 7, 6, 6	6,5	0,06
71,1	21500	14, 10, 9, 12	11,15	0,07
		mittlere Überlebensrate	0,07	

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa zweimal 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein. Die einzelnen Expositionen waren durch ein Zeitintervall von 2 Stunden getrennt.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
53	20870	11, 10, 7, 6	8,5	0,08
71,1	21500	17, 16, 11, 10	13,5	0,09
		mittlere Überlebensrate	0,08	

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa zweimal 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein. Die einzelnen Expositionen waren durch ein Zeitintervall von 3 Stunden getrennt.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
71,1	21500	30, 18, 18, 4	20	0,13
53	20870	9, 7, 4, 6	6,5	0,06
		mittlere Überlebensrate	0,01	

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa zweimal 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein. Die einzelnen Expositionen waren durch ein Zeitintervall von 4 Stunden getrennt.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
53	20870	4, 3, 3, 5	3,7	0,03
71,1	21500	11, 8, 8, 5	8,0	0,05
		mittlere Überlebensrate	0,04	

Als Kontrolle wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa für 60 Minuten ohne Intervall ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
53	20870	11, 9, 8, 5	8,2	0,07
71,1	21500	19, 17, 15, 14	26,2	0,1
		mittlere Überlebensrate	0,09	

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abbildung 7 zusammenfassend dargestellt.

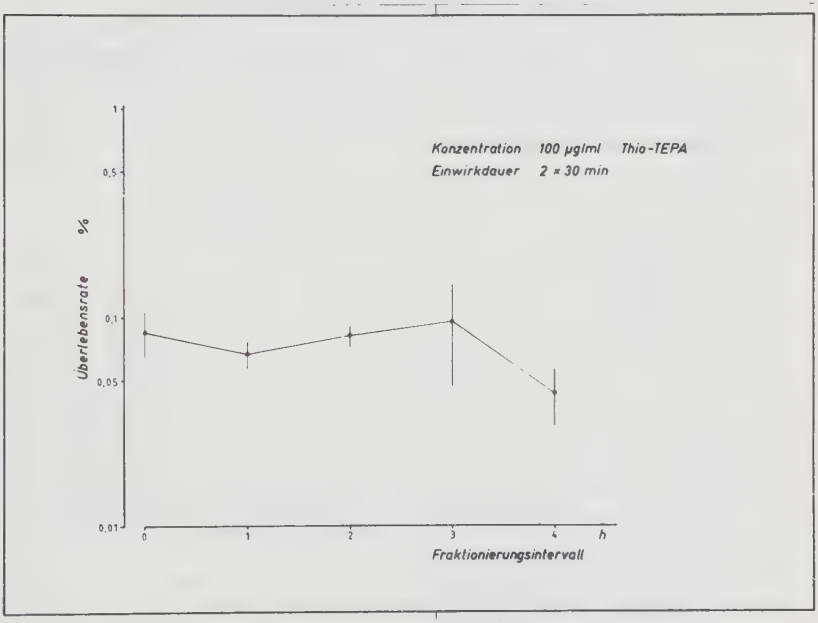

Abb. 7: Abhängigkeit der Überlebensrate vom Fraktionierungsintervall von 1 - 4 Stunden zwischen 2 Thiotepa-Gaben von 100 µg/ml für je 30 Min.

Die senkrechten Linien ergeben sich aus den errechneten Standardabweichungen der einzelnen Versuche.

In einer erneuten Versuchsserie mit 3 Experimenten wurde die gleiche Gesamtdosis mit anderen Intervallen fraktioniert.

Bei insgesamt 3 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa zweimal 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein. Die einzelnen Dosen waren durch ein Zeitintervall von 1 Stunde getrennt.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
100	3396	5, 3, 1, 1, 0	2	0,06
101	5916	0, 7, 19, 9, 11	11	0,18
108	6276	5, 4, 4, 6, 4	5	0,07
		mittlere Überlebensrate	0,1	

Bei insgesamt 3 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa zweimal 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein. Die einzelnen Dosen waren durch ein Zeitintervall von 3 Stunden getrennt.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
101	5916	3, 6, 9, 4, 5	6	0,1
100	3396	4, 3, 0, 5, 5	3	0,09
108	6276	9, 11, 7, 18, 11	11	0,16
		mittlere Überlebensrate	0,12	

Bei insgesamt 3 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa zweimal 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein. Die einzelnen Dosen waren durch ein Zeitintervall von 5 Stunden getrennt.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
100	3396	13, 5, 5, 7, 1	6	0,18
108	6276	16, 15, 6, 7, 11	11	0,16
101	5916	18, 29, 21, 31, 23	24	0,4
		mittlere Überlebensrate	0,25	

Bei insgesamt 2 Versuchen wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa zweimal 30 Minuten lang bei 37°C auf die Zellen ein. Die einzelnen Dosen waren durch ein Zeitintervall von 8 Stunden getrennt.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
101	5916	12, 15, 6, 8, 3	9	0,15
108	6276	30, 10, 5, 8, 13	13	0,18
		mittlere Überlebensrate	0,17	

Als Kontrolle wirkte eine Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa für 60 Minuten ohne Intervall ein.

PE	EINSAAT	ZAHL DER KOLONIEN PRO FLASCHE	$\bar{n}$	Ü.R.
108	6276	42, 42, 52, 45, 32	43	0,63
101	5916	17, 24, 13, 13, 12	16	0,27
		mittlere Überlebensrate	0,42	

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Abbildung 8 zusammenfassend dargestellt.

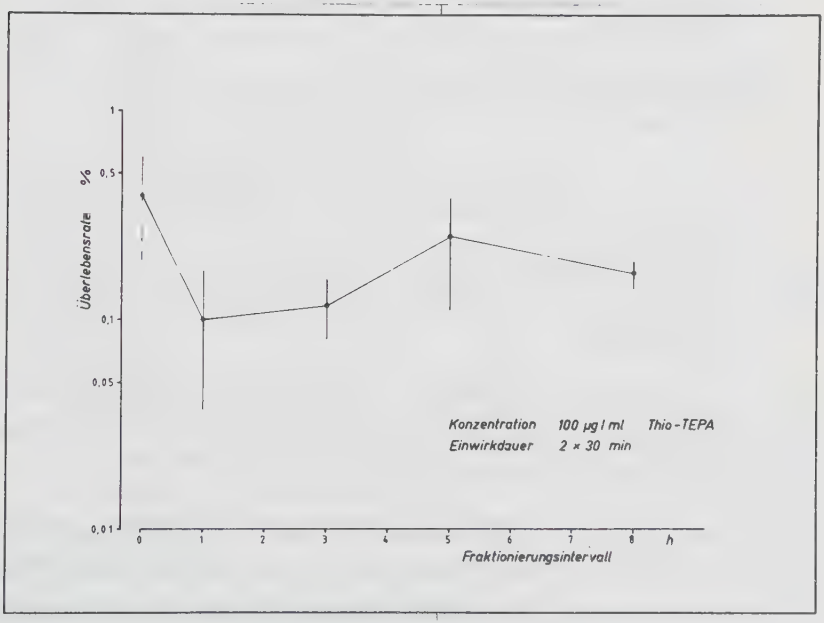

Abb. 8: Abhängigkeit der Überlebensrate vom Fraktionierungsintervall von 1 - 8 Stunden zwischen 2 Thiotepa-Gaben von 100 µg/ml für je 30 Min.
Die senkrechten Linien ergeben sich aus den errechneten Standardabweichungen der einzelnen Versuche.

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die Abhängigkeit der Überlebensrate der Zellen von der Konzentration bei gleicher Einwirkdauer

Die Konzentrationen erstrecken sich von 40 - 200 µg/ml Thiotepa. Insgesamt wurden 5 derartige Versuche unternommen. 3 Versuche wurden ausgeschieden, da die Kolonienausbeute der unbehandelten Zellen (plating efficiency = p.e.) unter 50% lagen.

Die Ergebnisse der auswertbaren Versuche sind in Abb. 1 graphisch dargestellt.

Die Dosiseffektkurve zeigt sich in halblogarithmischem Maßstab als sogenannte Schulterkurve mit endlicher Neigung. Die Reaktivität nimmt mit steigender Konzentration zu, bis sie einen konstanten Wert erreicht, der sich in einer steil abfallenden Kurve dokumentiert. Konzentrationen bis zu 120 µg/ml Thiotepa vermögen die Zellen noch teilweise zu kompensieren, bevor die Kurve in den geradlinigen, steil exponentiellen Teil übergeht.

Eine solche Kurve wird durch zwei bestimmungsgrößen definiert, die in der Strahlenbiologie den Parametern D_o und D_q entsprechen.

D_o ist die Konzentration, die im geradlinigen, exponentiellen Teil der Kurve die Zahl der jeweils noch überlebenden Zellen auf 1/e vermindert.

D_q ergibt sich aus dem Schnittpunkt mit der 100%igen Überlebensrate, wenn man den geradlinigen Teil der Kurve in der halblogarithmischen Darstellung verlängert.

Alper u. Mitarb. (1962) bezeichneten den sich daraus ergebenden Wert, der die Einheit Dosis hat, als Quasi-Schwellendosis (D_q). Er ist ein Maß für die Abweichung der Kurve von einer reinen Exponentialfunktion und für die Größe der "Schulter" der Schulterkurve.

Danach ergeben sich folgende Parameter:

D_o = 33 µg/ml Thiotepa

D_q = 70 µg/ml Thiotepa.

2. Die Abhängigkeit der Überlebensrate der Zellen von der Einwirkdauer bei gleicher Konzentration

Die Zellen wurden 30 - 180 Minuten einer Konzentration von 80 bzw. 100 µg/ml Thiotepa ausgesetzt.

Insgesamt wurden 9 derartige Versuche durchgeführt, wobei auch Versuche berücksichtigt wurden, deren Kolonienausbeute der unbehandelten Zellen unter 50% lag. Die Ergebnisse sind in Abbildung 2 - 5 graphisch dargestellt.

Die Überlebensrate der Zellen nach Konzentrationen von 80 bzw. 100 µg/ml Thiotepa nimmt mit Verlängerung der Einwirkzeit von einer halben auf eine Stunde zunächst steil ab. Wird jedoch die Einwirkzeit weiter verlängert, nimmt die Überlebensrate nur noch geringfügig ab.

3. Die Abhängigkeit der Überlebensrate vom Fraktionierungsintervall zwischen 2 Thiotepa-Gaben

Es wurden insgesamt 7 Versuche durchgeführt.

Die Zellen wurden einer Initialdosis von 80 bzw. 100 µg/ml Thiotepa 30 Minuten lang und nach einem Fraktionierungsintervall einer erneuten Dosis von 80 bzw. 100 µg/ml Thiotepa 30 Minuten lang ausgesetzt.

Das Fraktionierungsintervall wurde zwischen 1 h bis 8 h variiert. Die Ergebnisse aller Versuche sind in Abbildung 6 - 8 graphisch dargestellt. Bei 2 Versuchen wurde im Intervall frisches Vollmedium und Serum benutzt (Abbildung 6), während bei den anderen 5 Versuchen die Zellen (Abbildung 7 und 8) im Intervall sich in Hank'scher Lösung befanden.

Die experimentelle Veränderung hatte keinen Einfluß auf das Resultat. Es zeigte sich keine signifikante Abhängigkeit der Überlebensrate vom Fraktionierungsintervall.

D i s k u s s i o n

Für die Auswertung und Bestimmung der Überlebenskurven wurden nur Klone berücksichtigt, die aus mindestens 50 Zellen bestanden. Bei einer Konzentration von 200 µg/ml Thiotepa waren nur noch wenige Prozent der eingesäten Population teilungsfähig, während die übrigen Zellen ihre Reproduktionsfähigkeit verloren und vereinzelt am Flaschenboden sichtbar waren.

a) Dosiseffektbeziehung

Thiotepa gehört zu der Gruppe der alkylierenden Zytostatika und übt wie alle diese antineoplastischen Pharmaka auf Säugetierzellen einen Inaktivierungseffekt aus. Die Form der Dosiseffektkurve nach Einwirkung von Thiotepa ist der von Röntgenstrahlen sehr ähnlich (Trott, 1972).

Trägt man die Überlebensrate im logarithmischen Maßstab gegen die Thiotepa-Konzentration bei konstanter Expositionszeit auf, dann findet man im Anfangsteil der Kurve bei noch niedrigen Konzentrationen eine Schulter, die bei zunehmender Konzentration steiler wird und schließlich in eine Exponentialkurve übergeht. Die Schulterkurve ähnelt den bei Bestrahlung mit verschiedenen Dosen gefundenen Dosiseffektkurven (Elkind U. Whitmore, 1967; Trott, 1972). Analoge Verhältnisse wurden bei der Anwendung von Thiotepa auf HeLa-Zellen gefunden (Philipp, 1975). Bei der Wirkung anderer alkylierender Zytostatika, wie Stickstofflost auf HeLa-Zellen, zeigten sich unterschiedliche Ergebnisse. Während die Kurven von Berry (1974) eine Schwellenfunktion aufwiesen, zeigten die Kurven von Lewis (1963) eine tapische Schulter.

Die Dosiseffektkurve beschreibt in der ersten Versuchsanordnung eine deutliche Schulter. Ist eine Konzentration von mehr als 120 µg/ml Thiotepa erreicht, gleicht sich die Kurve einer Exponentialfunktion an. In den gleichartigen Versuchen von Trott u. Bölükbasi (1975) ist die Dosiseffektkurve weniger steil und nach den von Alper et al.)1962) eingeführten Bestimmungsgrößen ist die Schulterbreite äquivalent einer Konzentra-

tion von 10 µg/ml Thiotepa, während sie in dem vorliegenden Experiment bei 70 µg/ml Thiotepa liegt. Weiterhin zeigt sich im Vergleich zu diesen Versuchen eine steilere Abnahme im exponentiellen Teil. Die D_o der eigenen Experimente liegt bei 33 µg/ml, während die Kurve von Trott u. Bölükbasi eine D_o von 23 µg/ml aufweist. Die Unterschiede dürften durch Verschiedenheit der experimentellen Technik hervorgerufen sein. So wurde das Thiotepa in den hier beschriebenen Experimenten in Vollmedium gelöst, während Trott und Bölükbasi Hank's-Salzlösung verwendeten. Darüber hinaus wurden die vorliegenden Experimente mit anderen Seren und einem verschiedenen Klon der Zell-Linie durchgeführt.

b) Bedeutung der Einwirkdauer

Der zytostatische Effekt von Thiotepa hängt sowohl von der Konzentration als auch von der Einwirkdauer auf die Zellen ab. Wie aus den Abbildungen 2 - 5 ersichtlich ist, fällt die Überlebensrate der Zellen mit ansteigender Exposition und konstanter Konzentration von Thiotepa exponentiell ab. Dabei zeigt sich, daß die Überlebensrate der Chinesischen Hamsterzellen schon nach einer Einwirkzeit von 30 Minuten und einer Konzentration von 80 µg/ml Thiotepa signifikant abfiel und nach einstündiger Exposition nochmals um den Faktor 7 - 13 geringer wurde. Nach einer Einwirkdauer von 2 und 3 Stunden zeigt sich ein flacherer Kurvenverlauf und somit eine geringere Abnahme der Überlebensrate. Die Ursache dieses Effektes ist ungeklärt. Neben der naheliegenden Erklärung, daß es sich um ein Artefakt handelt, könnten auch biologische Faktoren eine Rolle spielen. Als sicher gilt, daß die zytostatische Wirkung des Thiotepa vom Zellzyklus abhängig ist (Bhuyan et al., 1972). Mauro et Elkind (1968) und Elkind et Sakamoto (1969) bewiesen, daß alkylierende Zytostatika eine ähnliche Wirkungsabhängigkeit vom Zellzyklus Chinesischer Hamsterzellen aufweisen wie Röntgenstrahlen und in der S-Phase des Zellzyklus ihre geringste Wirksamkeit besitzen.

In einer neuen Versuchsseriezeigte sich bei einer Konzentration von 100 µg/ml Thiotepa und variabler Expositionszeit eine ähnlich steile Abnahme der Überlebensrate in den ersten 60 Minuten wie sie unter einer Konzentration von 80 µg/ml Thiotepa zu beobachten war. Nach 90-minütiger Exposition wurde die Kurve flacher und wie in Abbildung 3 - 5 zu sehen ist, war nach 120-minütiger Exposition nur noch eine geringe bzw. keine Abnahme der Überlebensrat zu erkennen. Die Geraden wurden eingezeichnet, um die Abweichung von den Ergebnissen von Bölükbasi deutlich zu machen.

Druckrey u. Küpfmüller (1949) analysierten aufgrund allgemein pharmakologischer Daten die Abhängigkeit der zytostatischen Wirkung von der Konzentration und der Einwirkdauer antineoplastischer Pharmaka. Dieser Konzentration-Zeitbeziehung maßen auch Trott u. Bölükbasie (1975) große Bedeutung zu und fanden im Gegensatz zur üblichen Feststellung, daß die Wirkung vom Produkt aus Konzentration und Einwirkdauer abhängt, die Konzentration von Thiotepa einen größeren Einfluß auf die Überlebensrate von Säugetierzellen in vitro ausübt als die Einwirkdauer.

Nach unseren Ergebnissen aus drei Versuchen, die in Tabelle 1 aufgeführt sind, hat unter Beibehaltung des Produktes aus Konzentration und Zeit (Spalte 4 und 5) die Verdoppelung der Konzentration (Spalte 5) einen größeren zytostatischen Effekt auf die Überlebensrate von Chinesischen Hamsterzellen als die Verdoppelung der Expositionszeit (Spalte 4).

c) Fraktionierungseffekt

Bei diesen Untersuchungen sollte geprüft werden, ob bei fraktionierter Anwendung von Zytostatika eine Restitution vom subletalen Zellschaden wie unter Röntgenstrahlen auftritt. Wie schon erwähnt, scheint eine Ähnlichkeit zwischen Strahlung und alkylierenden Zytostatika in der Form der Überlebenskurve zu bestehen, daß sich nähmlich im Anfangsteil der später exponentiellen Dosiseffektkurve (Überlebenskurve) vieler Säugetierzellen bei verschiedenen Dosen eine Schulter präsentiert. Diese Form der Kurve wird als zunehmende Reaktivität der Zellen bei erhöhter Do-

sis erklärt. Liegt zwischen zwei Strahlendosen ein Ruheintervall, so können die überlebenden Zellen, die nach der ersten Dosis nicht inaktiviert wurden, ihre ursprüngliche Reaktivität zurückgewinnen. An Versuchen von Chinesischen Hamsterzellen demonstrierte Elkind u. Sutton (1960), daß nach einer zweiten Strahlendosis im Anschluß an ein Ruheintervall die überlebende Zellpopulation genauso reagierte wie die ursprüngliche Population: Nämlich mit einer Schulter und gleicher Endneigung. Daraus ergibt sich, daß die fraktionierte Bestrahlung weniger wirkungsvoll ist als die Einzelbestrahlung mit gleicher Gesamtdosis. Die Überlebensrate wächst bei fast allen Säugetierzellen, die einer fraktionierten Strahlenbehandlung ausgesetzt werden, um den Faktor 2 - 10 (Elkind, 1972). Den zeitlichen Verlauf der Wiederherstellung der Schulter zeigt Abbildung 9 bei Chinesischen Hamsterzellen nach einer 1. und 2. Dosis von 450 rd. (Der Versuch wurde gleichzeitig im Labor mit den gleichen Zellen durchgeführt.) Schon nach einem behandlungsfreien Intervall von einer Stunde ist die Überlebensrate auf mehr als das Doppelte des Wertes ohne bestrahlungsfreies Intervall angewachsen und die Zellen erreichen nach 3-stündigem Ruheintervall eine maximale Erholung. Danach folgt ein Absinken auf ein Minimum bei 7 Stunden Intervall, dem sich ein erneuter Anstieg anschließt. Für den zeitlichen Ablauf des Fraktionierungseffektes werden 2 Prozesse verantwortlich gemacht: Die Restitution der Schulter und die Progression der überlebenden Zellen durch den Zellzyklus (Elkind, 1967).

Obwohl die Dosiseffektkurven von Röntgenstrahlen und Zytostatika einander gleichen, konnte in unseren Versuchsreihen bei fraktionierter Zufuhr von Thiotepa auf Chinesische Hamsterzellen keine Erholung vom subletalen Zytostatikaschaden wie bei fraktionierter Röntgenbestrahlung festgestellt werden. In allen Versuchen zeigte sich nach fraktionierter Behandlung von 80 µg/ml und 100 µg/ml Thiotepa und einem Fraktionierungsintervall bis zu 8 Stunden kein Erholungseffekt, wenngleich in einigen Versuchen nach 3 - 5 Stunden Intervall ein geringfügiger Anstieg der Überlebensrate aufzukommen scheint. In der Regel nahm mit zunehmender Intervalldauer die Zahl der Kolonien und damit die Überlebensrate der Zellen weiter ab.

Die Schulterkurve nach Einwirkung von verschiedenen Konzentrationen und konstanter Einwirkzeit von Thiotepa ist nur scheinbar analog der Schulterkurve bei zunehmender Strahlendosis. Die korrekte Analogie zu der Dosiseffektkurve nach Einwirkung von Strahlendosen ist in der Kurve zu sehen, die die Abhängigkeit der Überlebensrate bei konstanter Konzentration und variabler Expositionsdauer von Thiotepa beschreibt. Da sich daraus keine Schulterkurve ergibt, sondern eine Exponentialkurve (Trott u. Bölükbasi) - in Abbildung 2 und 3 eine anfänglich exponentiell verlaufende Kurve mit einem Abknicken aus unbekannter Ursache -, ist mit einem Fraktionierungseffekt nicht zu rechnen.

Der gleiche Effekt wurde bei fraktionierter Gabe von Thiotepa auf Chinesische Hamsterzellen und HeLa-Zellen beobachtet (Trott u. Bölükbasi, 1975; Philipp, 1975). Ebenso konnte bei Versuchen mit Stickstofflost (Walker u. Thatcher, 1968; Sakomoto u. Elkind, 1969), sowie mit Isopropylmethansulfonat (Fox, 1970) und Methylmethansulfonat (Fox u. Nias, 1968) kein Fraktionierungseffekt festgestellt werden. Mauro u. Elkind (1968) fanden hingegen bei der Fraktionierung von Schwefellost an Chinesischen Hamsterzellen eine schnelle Erholung der Zellen mit Ausprägung einer Schulter, während an L-Zellen bei fraktionierter Gabe dieses Zytostatikums kein Fraktionierungseffekt auftrat (Walker u. Thatcher, 1968).

Abbildung 9

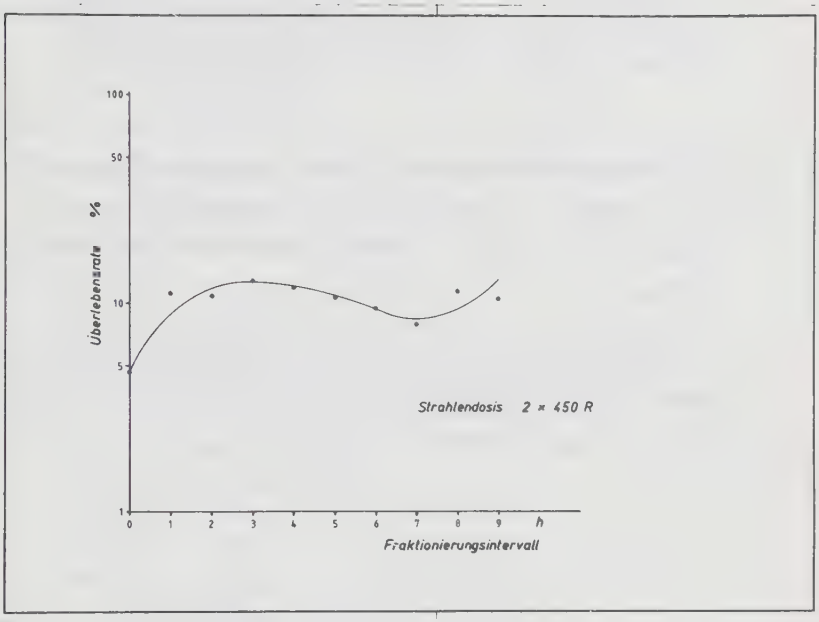

Abb. 9: Überlebensrate von Chinesischen Hamsterzellen in Abhängigkeit vom Fraktionierungsintervall bei einer Strahlendosis von 2 x 450 R.

Tabelle 1

Überlebensrate von Chinesischen Hamsterzellen in Abhängigkeit variabler Expositionen und variabler Konzentrationen von Thiotepa

Einwirkdauer	(min)	30	60	30	PE
Konzentration	(µg/ml)	100	100	200	
1. Versuch	Ü.R.	3,9	0,27	0,18	100
2. Versuch	Ü.R.	8	0,27	0,25	100
3. Versuch	Ü.R.	12,6	0,68	(0,07)	100

Zusammenfassung

a) Die Überlebensrate der Zellen des Chinesischen Hamsters nimmt mit zunehmender Konzentration von Thiotepa bei einer Einwirkdauer von 30 Minuten entsprechend einer Schulterkurve ab.

b) Die Überlebensrate der Zellen nimmt mit zunehmender Einwirkdauer bei Konzentrationen von 80 bzw. 100 µg/ml Thiotepa bis zur Einwirkdauer von 60 Minuten steil exponentiell ab, bei längerer Einwirkungsdauer nimmt die Wirksamkeit nur noch geringfügig zu.

c) Bei Fraktionierung von 80 - 100 µg/ml Thiotepa mit behandlungsfreiem Intervall bis zu 8 Stunden war keine Elkind-Erholung zu erkennen.

L i t e r a t u r

Alper, T., Fowler, J.F., Morgan, R.L., Vonberg, O.O., Ellis, F., Oliver, R.:
The caracterization af the "type C" survival curve.
Brit.J.Radiol., 35, 722-723 (1962)

Berry, R.J.:
A comparison of effects of some chemotherapeutic agents and those of X-rays on the reproductive capacity of mammalian cells.
Nature, 203, 1150-1153 (1964)

Bhuyan, L., Scheidt, LG., Fraser, T.J.:
Cell cycle phase specifity of antitumor agents.
Cancer Res., 32, 398-407 (1972)

Dörner P., Brinkmann W., Born R., and Steel G.G.:
Rate and time of DNA Synthesis of individual Chinese Hamster cells.
Cell Tissue Kinet, 8, 399-412 (1975)

Druckrey, H., KÜpfmüller, K.:
Dosis und Wirkung. In: Die Pharmazie. 8. Beiheft,
1. Ergänzungsband, 515-645.
Berlin: W. Saenger (1949)

Elkind, M.M.:
Sublethal X-ray damage and its repair in Mammalian cells.
Radiation Research, ed.by.G.Silini.
Amsterdam: North Holland (1967)

Elkind, M.M., Sutton, H.:
Radiation response of mammlian cells.
I. Rapair of X-ray damage in surviving Chinese hamster cells.
Radiation Research, 13, 556-593 (1960)

Elkind, M.M., Whitemore, G.F.:
The radiobiology of cultured mammalian cells.
New York: Gordon & Breach (1967)

Elkind, M.M.:

Recovery, reoxygenation and a strategy to improve radiotherapy. In: The biological and clinical basis of radiosensitivity (Ed.M.Friedman), 343-372. Springfield: C.C.Thomas (1974)

Fox, M., Nias, A.H.W.:

A modification of the sensitivity of mammalian cells surviving treatment with methyl methans sulfonate. Europ.J.Cancer, 4, 325-335 (1968)

Fox, M. Gilbert, C.W., Lajtha, L.G., Nias, A.H.W.:

The interpretation of "split-dose" experiments in mammalian cells after treatment with alkylating agents. Chem. Biol. Interabtions, 1, 241-246 (1970)

Levis, A.G.:

X-irridation sensitivity of nitrogen mustard-resistant mammalian cells in vitro. Nature, 198, 498-499 (1963)

Mauro, F., Elkind, M.M., Sakamoto, K.:

Differences in survival variations during the growth cycle of cultured Chinese hamster cells treated with X-rays and sulfur mustard. Cancer Res., 28, 1150-1156 (1968)

Philipp, R.:

DieWirkung von Thiotepa auf HeLa-Zellen. Dissertation Medizinische Fakultät der Universität München (1975)

Sakamoto, K., Elkind, M.M.:

X-rays and nitrogen mustard: Indipendant action in Chinese hamster cells. Biophs.J., 9, 1115-1130 (1969)

Trott, R.K.:

Strahlenwirkungen auf die Vermehrung von Säugetierzellen.
In: Handbuch der Medizinischen Radiologie, II/e, Hrsg.
O. Hug und A. Zuppinger.
Berlin-Heidelberg-New York: Springer (1972)

Trott, R.K. Bölükbasi, E.:

The effect of fractionated exposure to the Thiotepa upon
Chinese hamster cells in vitro.
Zeitschrift für Krebsforschung und klinische Onkologie, 87,
301-309 (1976)

Walker, I.G., Thatcher, C.J.:

Studies on the lethal effects of sulfur mustard on dividing
mammalian cells.
Radiat. Res. 34, 110-127 (1968)

Lebenslauf

Ich wurde am 29. Juni 1944 als zweites Kind des praktischen Arztes Dr. Sebastian Ohwerk und seiner Ehefrau Barbara, geb. Blehle, in Alzenau/Ufr. geboren.

Nach fünfjährigem Besuch der dortigen Volksschule trat ich 1955 in das Progymnasium Somborn ein und erlangte dort 1962 die Mittlere Reife.

Danach begann ich eine kaufmännische Lehre in einer Farben- und Lacke-Großhandlung. Diese Lehre unterbrach ich und bereitete mich neben der beruflichen Tätigkeit als Lagerist und Verkaufsfahrer über Abendkurse an dem Institut Paul Adam in Frankfurt/M. auf das Abitur vor. Ab März 1967 besuchte ich das Abendgymnasium für Berufstätige in Darmstadt, wo ich im März 1968 die Reifeprüfung ablegte.

Danach studierte ich 3 Semester Chemie und Biologie für das Lehramt an der Universität Würzburg und ab Wintersemester 1969 Humanmedizin an der Universität München.

Am 19. 8. 196 legte ich dort das medizinische Staatsexamen ab.

Danach war ich vom 1. 10. 1976 bis 28. 2.1977 als Medizinalassistent an der Anschlußheilverfahren-Klinik in Bad Steben und anschließend vom 1. 3. 1977 bis 30. 9. 1977 am Kreiskrankenhaus Erlenbach/M. beschäftigt.

Seit dem 1. 10. 1977 arbeite ich dort als Assistenzarzt auf der Abteilung für Innere Medizin.